体外診断用医薬品
製品番号 6604929

*2007 年 2 月改訂
1999 年 4 月作成
承認番号 20900AMY00167000

日本標準商品分類番号
877449

*T細胞キット／T細胞サブセットキット サイトスタット／コールタークローン CD3（IgG1）-FITC/T4-RD1

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証しません。
4. ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

形状・構造等（キットの構成）

本品は、FITC（Fluorescein isothiocyanate）及び RD1（Phycoerythrin=PE）でそれぞれ標識したモノクローナル抗体の混合試薬（溶液）です。1 テストあたり以下の抗体タンパクを含有しています。

CD3（IgG1）-FITC　:0.3～2.0μg/テスト
T4-RD1　:0.05～0.4μg/テスト

対象抗原:

CD3（IgG1）-FITC：CD3（分子量 20/25kD）

CD3 は、系統特異的な”Pan-T 細胞”表面抗原で、成熟胸腺細胞と末梢血の T 細胞（インデューサー及びサプレッサ/細胞障害の両方のサブセットを含む）とNatural Killer細胞の一部にみられます。この抗原は、B 細胞、単球、顆粒球、及び血小板には存在しません。細胞表面に CD3 が発現していない未熟胸腺細胞及びコモン（中期）胸腺細胞でも、細胞質内には CD3 抗原がみられます。

CD3 抗原は、T 細胞レセプタ分子と複合体（CD3/Ti または CD3/TCR と表記）を形成しており、Ti（TCR）を介した抗原認識に伴う T 細胞の増殖に必要な活性化シグナルの伝達に必要な分子です。CD3（IgG1）抗体は、末梢血 T 細胞に対してマイトジェン活性を有します。

T4-RD1：CD4（分子量 62kD）

CD4 は、胸腺細胞の一部と末梢血のインデューサーT 細胞亜群、及び単球に発現しています。CD4 陽性リンパ球は、免疫応答にいて中心的な役割を果たしています。末梢血では、CD4 陽性リンパ球は、T 細胞と T 細胞、T 細胞と B 細胞、T 細胞とマクロファージの各々の相互作用でインデューサー機能をつかさどっています。CD4 抗原分子は、標的細胞上の class-II 主要組織適合遺伝子複合体（MHC）抗原分子に反応します。

クローン:

CD3（IgG1）：UCHT1（CD3（IgG1））

セザリー病患者から得られた末梢血リンパ球及び胸腺細胞で免疫した BALB／c マウスの脾臓細胞と P3/NS1/1-AG4-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

T4：SCFI12T4D11(T4)

ヒト末梢血 T 細胞で免疫した BALB／cJ マウスの脾臓細胞と NS/1-AG4 マウス ミエローマ細胞の融合細胞から分離

Ig 構造:

マウス IgG1H 鎖及びκL 鎖 （CD3（IgG1）、T4 とも）

細胞毒性:

なし （CD3（IgG1）、T4 とも）

原料及び精製法:

融合細胞の培養上清よりアフィニティクロマトグラフィで精製（CD3（IgG1）、T4 とも）

標識:

CD3（IgG1）-FITC：FITC（Fluorescein isothiocyanate）
FITC／抗体タンパク比　:3～6
励起波長　:468～509nm
蛍光波長　:504～541nm

T4-RD1 ： RD1（Phycoerythrin=PE）
RD1／抗体タンパク比　:0.5～1.5
励起波長　:486～575nm
蛍光波長　:568～590nm

抗体以外の各種成分と濃度:

1 バイアル（0.5mL）中

BSA	:0.2%
リン酸カリウム	:0.01M
NaCl	:0.15M
NaN3	:0.1%
スタビライザ	

使用目的

リンパ球細胞表面抗原を分析し、成熟 T 細部とヘルパ／インデューサー T 細胞を同時に測定します。

測定原理

測定方法はフローサイトメトリーを用いた 2 カラー直接免疫蛍光法です。すなわち、本品を T 細胞上の CD3 抗原ならびに CD4 抗原に同時に反応させ、細胞に波長488nmの励起光を照射して緑色蛍光（FITC）及びオレンジ色蛍光（RD1）を発光させ、それぞれの蛍光を光電子増倍管で増幅し、その電気信号をコンピュータで解析、表示させることにより各抗体陽性細胞の計測を行います。

測定には 4 パラメータ以上の検出器のあるフローサイトメーターを使用します。前方散乱光（FS）と側方（90°方向）散乱光（SS）による散乱光サイトグラム中のリンパ球領域にゲートをかけることにより、自動的にリンパ球のみを計測し、蛍光強度の解析ができます。ゲート内の解析細胞数を数千個以上に設定することで、高精度で再現性の良い結果が得られます。

使用するフローサイトメーターは、あらかじめ蛍光のコンペンセーション（FITC と RD1 の蛍光波長のオーバーラップ分の補正）が適切に設定されている必要があります。コンペンセーションの設定は、CYTO-COMP 及び CYTO-COMP CELL（別売）を用いるか、またはシングルカラーのコールタークローン T8-FITC、T8-RD1 など蛍光強度の強い抗体で染色した正常リンパ球を用いて設定してください。コンペンセーション調整は測定前に必ず行い、測定中もレーザ光軸の再調整や PMT ハイボルテージの再設定等を行った際には修正・確認をする必要があります。

操作上の注意

1. サイトスタット／コールタークローンはフローサイトメトリー専用試薬であるので、蛍光顕微鏡には使用しないでください。
2. サイトスタット／コールタークローンは全血検体用に調製されています。
3. 抗凝固剤としては、EDTA、ヘパリン等を用いることができますが、いずれの場合でも採血後は室温で保存し、6 時間以内に染色してください。特に白血病細胞等では、保存によって急激に陽性率の低下を来たす場合があるので注意してください。
4. 静脈血検体の場合、細胞のバイアビリティ（生存率）は 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。
5. 溶血不良となるおそれがあるため、検体を試験管に分注する際は試験管の口や壁面に検体をつけないよう注意してください。付着した血液は、綿棒等で取り除いてください。
6. 病態と特定の白血球ポピュレーションの変動とは必ずしも一致しないため、測定結果は臨床及び他の診断上データと共に使用します。
7. 有核赤血球・蛋白濃度が異常な場合、ヘモグロビン合成異常では、赤血球の溶血が不完全となる場合があります。この場合、溶血していない赤血球をリンパ球としてカウントするために陽性率が実際よりも低くなるおそれがあるので注意してください。
8. 溶血時間が長すぎると白血球にもダメージが及ぶことがあります。
9. サンプルの前処理をイムノプレップで行う場合は、遠心洗浄の操作

は不要です。サンプル自動調製システム TQ-Prep（または Multi-Q-Prep） を用いることにより、サンプル処理が短時間で簡単にできます。

10. フローサイトメーターのレーザ光軸の設定不良や不適切なゲート設定により、誤った結果が得られる場合があります。
11. 単球は CD4 を弱く発現しており、T4-RD1 は弱陽性を呈します。したがって、「インデューサーT 細胞」または「CD4 陽性リンパ球」の陽性率及び陽性細胞絶対数の報告には、CD3（IgG1）と T4 のダブルポジティブの分画の数値を用います。
12. CD3（IgG1）陽性かつ T4 陰性の細胞集団は、通常大部分が CD8 陽性のサプレッサ／細胞傷害性 T 細胞ですが、CD3 陽性で CD4 と CD8 がともに陰性のリンパ球や、CD4 陽性かつ CD8 陽性のリンパ球も少数存在するので、サイトスタット／コールタークローン CD3（IgG1）-FITC/T8-RD1 を併用することをお勧めします。
13. 臓器移植等の患者で治療目的に CD3 抗体の投与を受けている場合は、本品による T 細胞の測定に影響することがあるので、CD2、CD5 等他の T 細胞マーカーの分析を併用することをお勧めします。
14. CD3 抗原は、T 細胞に対する特異性が最も高いが、胸腺における T 細胞成熟過程では遅れて発現する成熟 T 細胞マーカーであるため、他の T 細胞マーカーが陽性であっても CD3 は陰性である細胞があるので注意してください。特に未熟 T 細胞由来の白血病／リンパ腫では CD3 が陰性となる例が多いことが知られています。
15. 測定結果の解釈を行う場合には、測定条件及び供血者の年令、性別、喫煙習慣等の影響も考慮してください。

用法・用量（操作方法）

【試薬の調製】

モノクローナル抗体試薬はそのまま使用します（1 テストあたり 10μL）。その他の試薬については、「使用上及び取扱上の注」を参照してください。

【その他必要な試薬】

1. TQ-Prep（または Multi-Q-Prep）を用いてサンプルの処理を行う場合

イムノプレップ（TQ-Prep、Multi-Q-Prep 専用試薬；別売）
製品番号 7546999 容量 300 テスト

イムノプレップは以下の 3 つの試薬で構成されています。

①イムノプレップ A（溶血剤）
②イムノプレップ B（反応停止剤）
③イムノプレップ C（固定剤）

2. コールター全血法でサンプルの処理を行う場合

1）コールター全血ライジングキット（別売）

製品番号 6603152 容量 300 テスト

イムノライズ*1mL に PBS（下記）24mL を加える（25 倍希釈）。
フィクサティブ**はそのまま使用します。

* イムノライズ：キット中の溶血試薬
**フィクサティブ：キット中の固定剤
（医薬用外劇物：9.25%のホルムアルデヒドを含有するため、取り扱いには十分注意してください。）

2）PBS（リン酸緩衝生理食塩水）

PBS バッファ（製品番号 6603369） 1 パックを蒸留水 500mL に溶解します。調製後の pH は 7.2±0.2 で、防腐剤等は含んでいません。

3. アイソタイプコントロール

サイトスタット／コールタークローン MsIgG1-RD1/MsIgG1-FITC
製品番号 6603796 容量 50 テスト（0.5mL）

【検体の採取と調整】

検体にはEDTA、ヘパリン等の抗凝固剤を用いて採血した末梢血を用います。染色に最適な白血球数の範囲は 3～10×10^3個/mm^3であるため、白血球数が 10×10^3個/mm^3を超える場合は検体を希釈します。また、3×10^3/mm^3より少ない場合は遠心して再浮遊させます。コールター Q-Prep/イムノプレップ試薬システムを用いて赤血球を溶血する場合は、同一患者の血漿で検体を希釈します。それ以外の溶血剤を用いる場合にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）で希釈します。

注）検体は採血後室温（20～25℃）で保存します。採血してから 6 時間以内に操作を開始してください。

細胞数の調整

a）白血球数が多い検体（$>10\times10^3$個/mm^3）

白血球数		希釈倍率
10～20	$\times10^3$	:2 倍
20～30	$\times10^3$	:3 倍
30～40	$\times10^3$	:5 倍
40～60	$\times10^3$	:6 倍
60～100	$\times10^3$	:10 倍
100～200	$\times10^3$	:20 倍

b）白血球数が少ない検体（$<3\times10^3$/mm^3）

バフィーコート法
（1）検体を 25℃で 500×g、5 分間遠心します。
（2）白血球の層をパスツールピペットで採取します。この際、すべての白血球を確実に回収するため赤血球及び血漿も一部回収します。
（3）数回ピペッティングして、十分に懸濁させます。
（4）コールターLH 700シリーズ等のヘマトロジーアナライザーや血球計算板を用いて細胞濃度を測定します。
（5）細胞濃度を 10×10^3個/mm^3に調整します。1 テストあたり 100μLを用い、以下の操作手順に従って処理します。

【操作方法】

1. イムノプレップ（別売；弊社までお問い合わせ下さい）を用いる場合（Q-Prep 法）

イムノプレップは、TQ-Prep（または Multi-Q-Prep）*用に Coulter Immunology が開発した溶血試薬キットで、以下の 3 つの試薬で構成されています。

①イムノプレップ A（溶血剤）
②イムノプレップ B（反応停止剤）
③イムノプレップ C（固定剤）

* TQ-Prep（または Multi-Q-Prep）：フローサイトメトリー用のサンプル自動調製システム。イムノプレップを組み込むことにより一定時間ごとに溶血剤、反応停止剤、固定剤を試験管に自動的に分注、撹拌することにより、一度に多検体のサンプル自動処理できます。

1） モノクローナル抗体反応用と対照用に 12mmφx75mm の試験管を用意します。
2） それぞれの試験管に全血を 100μL ずつ分注します。
3） モノクローナル抗体試薬 10μL を抗体反応用の試験管に加えます。対照用の試験管にはサイトスタット／コントロール試薬（別売）を 10μL 加えます。
4） よく撹拌した後、室温で 10 分間反応させます。
5） TQ-Prep（または Multi-Q-Prep）で溶血・固定処理します。
6） EPICS®等のフローサイトメーターを用いてリンパ球領域の蛍光陽性率を測定します。
7） 調製したサンプルは 2 時間までは室温で保存できます。2 時間を超えるときは、2～8℃で遮光保存します。調製後 24 時間以内に測定してください。

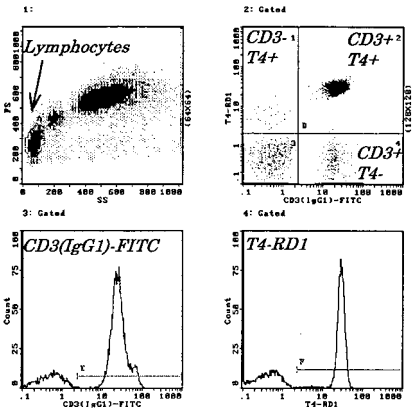
2. コールター全血ライジングキットを用いる場合（コールター全血法）

1） モノクローナル抗体反応用と対照用に試験管を用意します。
2） それぞれの試験管に全血を 100μL ずつ分注します。
3） モノクローナル抗体試薬 10μL を抗体反応用の試験管に加えます。対照用の試験管にはサイトスタット／コントロール試薬（別売）を 10μL 加えます。
4） よく撹拌し、室温で 45 分間反応させます。
5） PBS を 2～3mL 加え撹拌し、400～450×g、5 分間遠心分離します。
6） 上清を吸引除去します。
7） 溶血剤（キット中の「イムノライズ」を PBS で 25 倍希釈）を 1mL 加えてよく撹拌し、30 秒～2 分間室温で放置します。
8） 溶血が完了（サンプルの透明度が増す）したら、直ちにキット添付のフィクサティブを 250μL 加え、撹拌します。
9） PBS を 2mL 加え、再度撹拌します。
10） 400～450×g、5 分間遠心分離します。
11） 上清を吸引除去します。
12） 7）～9）の操作を繰り返します。
13） 適量（0.5～1mL）の PBS を加え、よく撹拌します。
14） 以上の処理を行なった後、EPICS®等のフローサイトメーターを用いてリンパ球領域の蛍光陽性率を測定します。検体はアイスバス中で遮光保存し、速やかに測定を行います。

測定結果の判定方法

1. 正しく調整し、適切にゲートをかけたフローサイトメーターを用いて細胞を測定します。
2. Q-Prep法で処理した検体をEPICS®フローサイトメーター以外の装置(FSを狭角で検出するようなフローサイトメーター)で測定する場合には、Q-Prep法で処理した後に、イオン交換水または蒸留水 0.5mL を試験管に加えます。明瞭な三分画(リンパ球、単球、顆粒球領域)が得られるようにスレッショルドと散乱光のゲインを調整し ます。
3. リンパ球領域に解析ゲートを設定し、FITC 蛍光(Log スケール)及び RD1(PE)蛍光(Log スケール)の 2 パラメータ蛍光ヒストグラムを取得します。ヒストグラムの縦軸に RD1(PE)蛍光、横軸に FITC 蛍光をとった場合、CD3 陽性率は、Quadrant2(CD3+/T4+)と Quadrant4(CD3+/T4−)の各分画のパーセンテージの和を報告します。同様に、T4 陽性率は Quadrant1(CD3−/T4+)と Quadrant2(CD3+/T4+)の各分画のパーセンテージの和となりますが、CD3−/T4+の分画は通常ほとんどが単球であるため、「CD4 陽性 T 細胞」として、Quadrant2(CD3+/T4+)の数値を報告します。

図. ヒストグラム例(健常者末梢血、Q-Prep 法、EPICS XL で測定)



絶対数の計算

CD3(IgG1)陽性細胞及び T4 陽性細胞の絶対数は、Flow Count(絶対数測定試薬、製品番号 7547053)を併用して簡便かつ高精度に測定できます。また、各サブセットの陽性率と血球数算定(コールターLH 700 シリーズ等を用いる)の結果から次式により計算することもできます。

絶対数(個/mm^3)=
総白血球数(個/mm^3)×リンパ球%×陽性率%／10^4

【測定条件の確認】

測定条件が正しいかどうかを確認するには、CYTO-TROL(精度管理用陽性コントロール細胞、製品番号 6604248)または健常者検体を用いて陽性コントロールとします。正常値は施設ごとに設定してください。

Fc レセプタを介した単球、顆粒球に対する非特異結合はリンパ球領域を正しくゲーティングすることで除外できます。検体ごとにサイトスタット／コールタークローン Mo2-RD1/KC56-FITC(CD14/CD45)を測定すると、単球を含まない正しいリンパ球ゲーティングが可能となります。

各検体のリンパ球に対する非特異的な抗体の Fc 結合を確認するために適切なアイソタイプ・コントロール試薬(サイトスタット／コールタークローン MSIgG1-RD1/MsIgG1-FITC)を用います。健常者検体の場合、コントロール試薬の陽性率は通常 1〜2%となります(コントロール試薬において Quadrant1、2、4 のいずれかで 2%を上回る場合、測定結果は誤差を含んでいるおそれがあります)が、腫瘍検体ではより高い値を示すことがあります。

臨床的意義

免疫機構の機能的中心であるリンパ球のうち、T 細胞は骨髄中の幹細胞を起源とし、胸腺における機能的成熟過程を経て末梢血、組織に現れます。T 細胞はその分化成熟段階に、あるいは機能的サブセットに特有の細胞表面抗原を有しています。コールタークローンモノクローナル抗体はこのような細胞表面抗原を検出することによって免疫機構をさらに詳しく解明する目的で、Harvard Medical School の Dr.S.F.Schlossman の研究グループと Coulter Immunology によって共同開発されました。

ヒト末梢血リンパ球ポピュレーションは T 細胞(胸腺由来)、B 細胞(骨髄細胞)、ヌル細胞の 3 つの細胞タイプから成ります。これらの細胞タイプは顕微鏡検査では形態学的に区別できませんが、細胞膜上の特有な抗原の違いによって同定が可能です。

T 細胞及び B 細胞は免疫機能の中心的役割を果たしています。種々の T 細胞サブタイプが特異的抗原を認識して、エフェクタ機能を発揮したり、細胞性／体液性免疫応答を調節しています。抗原特異的な B 細胞は、T 細胞を介した抗原やマクロファージによる活性化の過程で、抗原特異的な免疫グロブリン(Ig)を産生・分泌する形質細胞へと分化します。

E-ロゼット法は、T 細胞に特異的であるものの、光学顕微鏡下で羊赤血球と T 細胞の結合を観察し、細胞数を数えなければなりません。SmIg の測定による B 細胞の同定・算定も、他の細胞集団に Ig の Fc 部分に対するレセプタに結合した Ig による SmIg 偽陽性がみられるため、精度に限界があります。

さらに近年、T 細胞及び B 細胞を同定するためのモノクローナル抗体が開発されました。従来の比較的特異性の低いポリクローナル抗体(異種抗血清)に比べ、モノクローナル抗体は各々が異なる T 細胞及び B 細胞の表面抗原を特異的に認識します。これにより、正確で確実なリンパ球測定だけでなく、他の細胞マーカー(TdT、HLA-DR 関連抗原、SmIg)と組み合せて、T 細胞及び B 細胞分化段階の同定も行うことができます。

細胞表面抗原は、細胞の成熟(分化)段階や機能を反映する形で、T 細胞、B 細胞上に発現あるいは消失しています。ある抗原が発現した細胞には、他の表面抗原もその一部または全部が様々な期間発現しています。

T 細胞における"pan-T 細胞"抗原は、CD7(初期前胸腺細胞);CD2;CD5(未熟胸腺細胞);細胞質内 CD3(未熟及び中間型胸腺細胞);細胞表面 CD3(成熟胸腺細胞)というような順序で発現していきます。これに伴って、CD4 と CD8 の同時発現(中間型胸腺細胞)とその後の各々単独の発現(成熟胸腺細胞)がみられます。これらの表面抗原は、末梢血やリンパ組織中の休止期及び活性化 T 細胞まで分化段階を通してその発現が継続します。

"Pan-T 細胞"抗原及び"Pan-B 細胞"抗原に特異的なモノクローナル抗体は、それぞれ成熟 T 細胞及び B 細胞の同定・算定に用いることができます。また、リンパ球の成熟(分化)段階や機能的分類は、特定の細胞表面抗原に特異的なモノクローナル抗体を用いて確定することができます。本品は、"Pan-T 細胞"及び"インデューサーT 細胞"の表面抗原である CD3 と CD4 にそれぞれ特異的に結合する CD3(IgG1)及び T4 モノクローナル抗体によって、末梢血の T 細胞数及びインデューサーT 細胞数を測定します。

さらに、本品は、同じ全血サンプル中の異なるリンパ球集団を一度に分析することができます。

蛍光抗体法により、リンパ球の分類を行う場合、通常は比重遠心分離あるいは溶血処理により赤血球を除去し、リンパ球分画を回収しています。いずれの方法とも混入した分離液や溶血剤あるいは未反応の抗体を除去するため、撹拌〜遠心分離〜アスピレーションの操作を繰り返す必要があります。この一連の操作の繰り返しにより、腫瘍細胞や活性化細胞がダメージを受けるおそれがあります。また、アスピレーション操作による細胞のロスも生じます。この問題を解決するため、遠心分離〜アスピレーションの操作のない検体処理法(No Wash 法)が考案され、全血サンプルを No Wash 法で処理する自動前処理システムとしてコールター Q-Prep 及び Multi-Q-Prep、TQ-Prep が開発されています。サイトスタット／コールタークローンはバックグラウンドの蛍光が低く、コールター Q-Prep または Multi-Q-Prep、TQ-Prep による前処理に最適なリンパ球サブセット分析用モノクローナル抗体試薬です。

T 細胞及び CD4 陽性リンパ球の割合(陽性率)と陽性細胞数(絶対数)は、既知あるいは未知の疾病下にある患者の免疫機能の評価や、臓器移植後のリンパ球レベルのモニタに有用です。

すなわち、T 細胞及び CD4 陽性リンパ球数の異常は、白血球数の減少を来たしている未知の疾患の患者の診断及び予後判定に役立ちます。T 細胞及び CD4 陽性リンパ球の陽性率の変動が腎、心、肝、肺などの臓器移植に伴って認められ、T 細胞及び CD4 陽性リンパ球数の測定がこれらの細胞集団のモニタリングに有用であることが示唆されます。

CD4 陽性リンパ球数の異常を確認することは、免疫不全症の診断や予後判定にも有用です。例えば、後天性免疫不全症候群(AIDS)の病原体であるヒト免疫不全ウイルス(HIV)に感染すると、HIV のレセプタ(CD4 抗原分子そのもの)を発現している CD4 陽性リンパ球が選択的に死滅することにより免疫抑制が起こります。臨床上、免疫学上の異常の進行は、

一般に CD4 陽性リンパ球数の減少と相関しています。

疾病に関連した CD4 もしくは CD8 陽性リンパ球数の変化は、CD4/CD8（T4/T8）比、すなわちインデューサーT 細胞とサプレッサ／細胞障害性 T 細胞の比の変化をもたらします。したがって、T4/T8 比は診断及び免疫機能の予後指標として有用です。

T4/T8 比及び CD4 陽性リンパ球数は、ARC（AIDS-related complex）及び AIDS の判定に最も広く用いられている検査項目です。進行した AIDS 患者では、CD4 陽性リンパ球数が検出限界未満になるとともに、T4/T8 比が 0（ゼロ）に近づきます。このような症例では、CD8 陽性リンパ球数は正常、増加、あるいは減少と様々です。

T4/T8 比に有意な変動を来たさない程度の CD4 陽性リンパ球の陽性率減少と CD8 陽性リンパ球の陽性率増加が、腎移植後の腎機能が安定している時期の患者で観察されています。また、自家骨髄移植後の造血系再構築の過程で、T4/T8 比の低下と CD4 陽性リンパ球の陽性率減少が認められています。

性能

【期待値】

自社施設にて、20～95 歳の健常者男女の末梢血（n＝145）を本品で測定して得られた CD3（IgG1）、T4 それぞれの陽性率及び陽性細胞絶対数は次のとおりです。各々の陽性率は、EPICS PROFILE フローサイトメーターでリンパ球領域にゲートをかけて測定しました。リンパ球数をコールターヘマトロジーアナライザーで測定し、各陽性率を掛け合わせて絶対数を算定しました。

	Min	Max	Mean±1SD
CD3（IgG1）陽性率（%）	43	88	70.5±9.5
T4 陽性率（%）	22	64	44.2±8.7
CD3（IgG1）絶対数（個/mm^3）	537	3,374	1,401.4±477.8
T4 絶対数（個/mm^3）	374	1,966	865.7±285.9

これらは期待値の一例であり、施設ごとに期待値を設定してください。

【特異性】

CD3（IgG1）（UCHT1）及び T4 モノクローナル抗体は、いずれも過去の白血球分化抗原に関する国際ワークショップにおいて CD3 抗体、CD4 抗体としてそれぞれ認定されています。

健常者末梢血では、本品はリンパ球には反応するが顆粒球とは反応しません。T4-RD1 は単球にも弱く反応します。また、本品はバーキットリンパ腫由来 B 細胞株（CD20 陽性）と交差反応しないことが確認されています。

【再現性】

1）同時再現性

自社施設にて、CD3（IgG1）陽性率及び T4 陽性率の異なる末梢血（全血）3 検体を本品で 10 回測定して得られた CD3（IgG1）、T4 それぞれの陽性率及び変動係数（%CV）は以下のとおりです。モノクローナル抗体結合磁気ビーズを用いて、CD4 陽性細胞の割合を調節した健常者末梢血を検体としました。検体ごとに 10 本の全血サンプルを調製し、各々の陽性率を EPICS PROFILE フローサイトメーターでリンパ球領域にゲートをかけて測定しました。

		CD3（IgG1）陽性率（%）		T4 陽性率（%）	
検体	n	Mean±1SD%	CV	Mean±1SD	%CV
1	10	68.3±0.49	0.71	5.3±0.37	6.98
2	10	81.3±0.87	1.07	49.6±0.70	1.41
3	10	80.2±0.49	0.61	70.6±0.58	0.82

2）施設間差

異なるフローサイトメーターを使用している自社内の 3 つの研究室で同じ検体を同日測定しました。健常者 1 名の末梢血検体を 3 等分し、それぞれの研究室でこの検体から 10 本の全血サンプルを調製、測定して得られた CD3（IgG1）、T4 の各陽性率及び変動係数（%CV）は以下のとおりでした。

		CD3（IgG1）陽性率（%）		T4 陽性率（%）	
研究室（機種）	n	Mean±1SD%	CV	Mean±1SD%	CV
1（EPICS PROFILE）	10	75.7±0.55	0.72	26.1±0.81	3.10
2（EPICS PROFILE）	10	74.0±0.47	0.63	28.3±0.47	1.66
3（EPICS PROFILE Ⅱ）	10	75.0±0.66	0.88	26.6±0.52	1.95

使用上または取扱上の注意

1. 本製品はアジ化ナトリウムを 0.1%含んでいます。アジ化ナトリウムは酸性下で有毒なアジ化水素酸を産生するため、取り扱いには十分注意してください。また、アジ化物が金属製の排水管内に蓄積することによる爆発の危険性を避けるため、アジ化物を廃棄する際は、施設で定められた方法に従うか、多量の流水で希釈してください。
2. 検体及び検体に触れた器具類は感染の危険性があるものとして取り扱い、適当な表示、処理をした上で廃棄してください。
3. ピペットを口で吸引しないでください。皮膚や粘膜への検体の接触を避けてください。
4. 保管及びインキュベーション中に試薬を強い光にさらさないでください。
5. 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。
6. 有効期限を過ぎた試薬を使用しないでください。

貯法、有効期限、安定性

1. 未開封の試薬は、冷蔵（2～8℃）で保存した場合に各バイアルに明記してある有効期限まで使用できます。
2. 試薬を凍結したり、長時間光にさらすことは避けてください。全ての試薬は使用する前に室温（20～25℃）にもどしてください。
3. 試薬の外観に変化がみられたり、コントロール検体による測定値に大きな変化がある場合は、試薬の劣化が考えられるので使用しないでください。
   試薬の正常な外観はピンク色がかった透明な液体です。

包装単位

サイトスタット／コールタークローン CD3（IgG1）-FITC/T4-RD1

製品番号 6604929 容量 50 テスト（0.5mL）

主要文献

1. Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C and Schlossman SF,eds:1984. Leukocyte Typing. New York: springer-Verlag. p. 28, 41-42,44,196.
2. McMichael AJ, ed:1987. Leukocyte a Typing lll. Oxford: Oxford University Press.p.38,40,42,43,116,167,170-172,176,199,202,206,302-308,315, 475.
3. Reinherz EL and Schlossman SF: 1980. The differentiation andfunction of human T lymphocytes. Cell 19: 821-827.
4. Aiuta F Cerottini J-C, Coombs RRA,Cooper M,Dickler HB,Froland S,Fudenberg HH,Greaves MF, Grey HM, Kunkel HG, Natvig J, Preud'homme J-L, Rabellino E, Ritts RE, Rowe DS, Seligmann M,Siegal FP, Stjrnsward J, Terry WD and Wybran J: 1975.Identification, enumeration and isolation of B and T lymphocytes fromhuman peripheral blood. lnternational Union of lmmunologicalSocieties（IUIS）,Report-July1974. Clin lmmunol and lmmunopathol 3: 584-597
5. Foon KA and Todd RF : 1986.Immunologic classification of leukemiaand lymphoma. Blood 68:1-31.
6. Drexler HG, Gignac SM and Minowada J: 1988. Routineimmunophenotyping of acute leukaemias. Blut 57:327-339.
7. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM and Bemstein ID: 1986.Leukocyte Typing ll. New York: Springer-Verlag. Vol2,p.8,15-25,37.
8. Caligiuri M, Murray C, Buchwald D, Levine H, Cheney P, Peterson D,Komaroff AL and Ritz J: 1987. Phenotypic and functional denciencyof natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome. JImmonol 139: 3306-3313.
9. Reinherz EL,Meuer S,Fitzgerald KA, Hussey RE, Levine H andSchlossman SF:1982. Antigen recognition by human T lymphocytesis linked to surface expression of the T3 molecular complex. Cell 30：735-743.
10. Meuer SC, Acuto O, Hussey RE, Hodgdon JC, Fitzgerald KA,Schlossman SF and Reinherz EL:1983. Evidence for the T3-associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor. Nature303:808-810.
11. Reinherz EL, Meuer SC and Schlossman SF: 1983. The delineation of antigen receptors on human T lymphocytes. Immunol Today 4: 5-8.

12. Rainherz EL, Morimoto C, Fitzgerald KA, Hussey RE, Daley JF and Schlossman SF: 1982. Heterogeneity of human T4+ inducer T cells defined by a monoclonal antibody that delineates two functional subpopulations. J Immunol 128: 463-468.
13. de Martini RM and Parker JW: 1989. Immunologic alterations in human immunodeficiency virus infection: A review. J Clin Lab Anal 3: 56-70.
14. Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, Aldrich WR and Schlossman SF: 1985. The isolation and characterization of the human suppressor inducer T celi subset. J Immunol 134: 1508-1515.
15. Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, Brown HM and Schlossman SF: 1986. The cellular basis for the induction of antigen-specific T8-suppressor cells. Eur J Immunal 16: 196-204.
16. Meuer SC, Schlossman SF and Reinherz EL 1982. Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocyies: T4+ and T8+ effector T cells recognize products ot different major histocompatibility regions. Proc Natl Aced Sci USA 79: 4 395-4399.
17. Benjamini E and Leskowitz S: 1991. Immunology: A Short Course. Second Edition. New York: Wiley-Liss. p.211-244.
18. Reinherz EL, O'Brien C, Rosenthal P and Schlossman SF: 1980. The cellular basis for viral-induced Immunodeficiency: Analysis by monoclonal antibodies. J Immunal 125: 1269-1274.
19. Felsenstein D, Carney WP, Iacoviello VR and Hirsch MS: 1985. Phenotypic properties of atypical lymphocyies in cytomegalovirus-induced mononucleosis. J Infect Dis 152: 198-203.
20. Rinaldo CR, Ho M, Hamoudl WH, Gui X and DeBiasio RL: 1983. Lymphocyte subsets and natural killer cell responses during cytomegalovirus mononucleosis. Infect Immun 40: 472-477.
21. Goldstein G, Lifter J and Mittler R: 1982. Immunoregulatory changes in human disease defected by monoclonal antibodies to T lymphocytes. In: Monoclonal Antibodies in Clinical Medicine. McMichael AJ and Febre JW, eds. New York, NY: 1 Academic Press. p.39-70.
22. Pedrazzini A, Freedman AS, Andersen J, Heflin L, Anderson K, Takvorian T, Canellos GP, Whitman J, Coral F, Ritz J and Nadler LM: 1989. Anti-B cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation for B-cell non-Hodgkin's lymphoma: Phenotypic reconstitution and B-cell function. Blood 74: 2203-2211.
23. Preijers FWMB, DeWitte T, Wessels JMC, DeGast GC, Van Leeuwen E, Capel PJA and Haanen C: 1989. Autologous transplantation of bone marrow purged in vitro with anti-CD7-(WTl-) Ricin A Immunotoxin in T-cell lymphoblastic leukemia and lymphoma. Blood 74, 1152-1158.
24. Ramos EL, Turks LA, Leggat JE. Wood IG, Milford EL and Carpenter C8: 1989. Decrease in phenotypically defined T helper inducer cells (T4+4B4+) and increase in T suppressor effector cells (T8+2H4+) in stable renal allograft recipients. Transplantation 47: 465-471 .
25. Fauci AS: 1988. The human deflciency virus: Infectivity and mechanism of pathogenesis. Science 239: 617-622.
26. Taylor MGJ, Fahey JL, Detels R and Giorgi JV: I989. CD4 percentage, CD4 number and C04:CD8 ratio in HIV infection: How to choose and how to use. J AIDS 2: 114-124.
27. Beverly PCL and Callard RE: I981. Distinctive functional characteristics of human 'T' lymphocytes defined by E rosetting or a monoclonal anti-T cells antibody. Eur J lmmunol 11:329-334.
28. Reinherz EL. Kung PC, Goldstein G and Schlossman SF: 1979. A monoclonal antibody with selective reactivity with functionally mature human thymocytes and all peripheral human T cells. J Immunol 123: 1312-1317
29. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM and Bernstein ID: 1986. Leukocyte Typing ll. Now York: Sprlnger-Verlag. Vol.1.p. 8-9.
30. Loken MR, Brosnan JM, Bach BA and Ault KA: 1990. Establishing optimal lymphocyte gates for immunophenotyping by flow cytometry. Cyiometry 11: 453-459.
31. Gebel HM, Lebeck LL, Jensik SC, Landay AL and Bray RA: 1989. Discordant expression of CD3 and T-cell receptor antigens on lymphocytes from patients treated with OKT3. Transplantation Proceedings 1: 1745-1746.
32. Tunnacliffe A. Oisson C, Traunacker A, Krissensen GW, Karjalainan K and De Le Heta A: 1989. The majority of CD3 epitopes are conferred by the epsilon chain. In Leukocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens. W Knapp et al., eds, Oxford: Oxford University Press. p. 295-296.
33. Schroeder Tl and Chatenoud L: Immunological monitoring during treatment with OKT3. Presented under the auspices of the American Society of Transplant Surgeons. Citation to be filled in when available from authors.Koepke JA and Landay AL: 1989. Precision and accuracy of absolute lymphocyte counts. Clin Immunol Immunopathol 52: 19-27.

*問い合わせ先

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明二丁目 5 番 7 号
TEL: 0120-566-730
FAX: 03-5530-2460

商標

COULTER 、 COULTER CLONE 、 CYTO-STAT 、 EPICS 、 FLOW-COUNT 、Q-Prep 、Multi-Q-Prep 、TQ-Prep 、及び XL は、Beckman Coulter, Inc.の登録商標または商標です。

本品を本来の目的以外に使用したり、添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証の限りではありません。

*製造販売元

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明二丁目 5 番 7 号